

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg

Vorstand: Professor Dr. Dr. W. N e u m a n n

Histaminfreisetzung durch Schlangengifte,
Bienengift und daraus isolierte Komponenten
(nach Untersuchungen am isolierten Rattenzwerchfell).

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Claus Striebeck

aus Königsberg/Preußen

Würzburg 1958

STANFORD-LANE MEDICAL LIBRARY



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153517_0247

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg

Vorstand: Professor Dr. Dr. W. N e u m a n n

Histaminfreisetzung durch Schlangengifte,
Bienengift und daraus isolierte Komponenten
(nach Untersuchungen am isolierten Rattenzwerchfell).

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Claus Striebeck

aus Königsberg/Preußen

Würzburg 1958

Referent: Privatdozent Dr. E. Habermann
Korreferent: Professor Dr. Dr. W. Neumann

Tag der Promotion: 16. 12. 58

Gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg

M E I N E R F R A U

I n h a l t s ü b e r s i c h t

	<u>Seite:</u>
I. Einleitung	1
II. Eigene Versuche	4
A. Methodik	4
B. Versuche mit Gesamtgiften	6
1. Bienengift	6
2. Naja tripudians-Gift	7
C. Versuche mit toxischen Komponenten	8
1. Fraktion I aus Bienengift	8
2. Crotamin und Crotactin aus Crotalus terrificus-Gift	9
D. Versuche zur Frage der Phospholipasewirkung	11
1. Fraktion II von Bienengift	11
2. Phospholipase A aus Bienengift	13
3. Phospholipase A aus Crotalus terrificus-Gift	14
4. Lysocithin	16
Tabelle	18
E. Hemmung der freigesetzten Aktivität durch ein Antihistaminikum	19
F. Versuche an der isolierten Meer- schweinchenlunge	19
III. Besprechung	20
IV. Zusammenfassung	23
V. Literatur	25

Histamin spielt bei der Wirkung tierischer Gifte auf den Organismus eine doppelte Rolle: es ist in verschiedenen Giftsekreten, so z.B. der Biene, Wespe oder Hornisse enthalten, und es kann anscheinend durch eine große Zahl von Giften im Organismus aus körpereigenen Vorstufen in Freiheit gesetzt werden. Während der Nachweis von Histamin in den Giftsekreten selbst keine größeren Schwierigkeiten bereitet, ist eine chemische Identifizierung der aus biologischem Material freigesetzten Wirkstoffe noch nicht gelungen. Obwohl also streng genommen stets nur "histaminartige Substanzen" nachgewiesen sind, ist es doch üblich, von der Freisetzung von Histamin zu sprechen.

Schon ESSEX und MARKOWITZ fiel auf, daß eine große Zahl von Wirkungen von Schlangengiften denen von Histamin ähneln, obwohl Schlangengifte kein Histamin enthalten.

Nachdem KELLAWAY und LE MESSURIER der Nachweis einer Histaminfreisetzung mißlungen war, hatten FELDBERG und KELLAWAY (1) erstmals Erfolg. Sie durchströmten Lungen von Meerschweinchen und Katzen mit Schlangengiftlösungen und fanden im venösen Ausfluß histaminähnliche Wirkungen und ausflockbares Eiweiß. Das Erscheinen von Eiweiß ließ auf eine starke Zellschädigung schließen. Mit Erhöhung der Giftkonzentration stiegen Menge und Aktivität des freigesetzten Materials. Zugleich bemerkte man eine starke Bronchokonstriktion, die sich ebenfalls mit Histamin in Zusammenhang bringen ließ. Neben Histamin und Eiweiß fanden FELDBERG und KELLAWAY (2) in der Perfusionsflüssigkeit von Meerschweinchen- und Hundelungen sowie Hundelebern nach Applikation von Bienen gift auch eine "slow reacting substance" (SRS) ungeklärter Natur, welche die Darmempfindlichkeit änderte und durch Kochen nicht zerstört werden konnte. Die Lungen wurden glasig und schwer. In der Leberdurchströmungsflüssigkeit fand sich eine den Darm schnell kontrahierende Substanz, eine nicht identifizierte SRS, ausflockbares Eiweiß und gelbliches Pigment. Diese SRS konnte durch Kochen zerstört werden.

Auch in den Durchströmungsflüssigkeiten von mit Kobragift behandelten Lungen und Lebern von Hunden und Affen fand sich neben

Histamin und Eiweiß eine SRS, die am Darm die gleichen Erscheinungen machte wie mit Kobragift behandeltes Lecithin (FELDBERG und KELLAWAY (3)). Man nahm an, daß die Bildung dieser Substanz eine Vorstufe der Histaminfreisetzung wäre, da sehr kleine Giftdosen, die noch keine Histaminfreisetzung aus Katzen- und Hundorganen hervorriefen, doch schon kleine Mengen jener "lysocithin-ähnlichen" Substanz entstehen ließen.

FELDBERG, HOLDEN und KELLAWAY fanden später, daß nach Einwirkung von Kobragift auf Lymphe, Eigelb oder Lecithin eine kontrahierende SRS neben dem erschlaffend wirkenden Lysocithin gebildet wird; die gleichen Substanzen werden auch gebildet, wenn man Gift auf isolierte Organe einwirken läßt. Lysocithin läßt aus der durchströmten Leber des Affen Histamin, Eiweiß und Pigment frei werden. Die Tatsachen, daß Lysocithin in mit Giftlösung perfundierten Organen entsteht, daß es seinerseits zur Histaminfreisetzung imstande ist, und daß ferner alle untersuchten Schlangen- und Hymenopterengifte Phospholipase A enthalten, würden wohl zu der FELDBERGSCHEN Theorie einer Histaminfreisetzung via Lysocithin passen. Untersuchungen späterer Autoren stützen diese Theorie bis zu einem gewissen Grade.

So untersuchte TRETHEWIE die hämolytische und histaminfreisetzende Wirkung zweier australischer Schlangengifte. Er fand in der Durchströmungsflüssigkeit von Hundelebern und -lungen Histamin, ausflockbares Eiweiß, hämolysierende und "slow reacting substances". Er prüfte einen Alkoholauszug aus den vergifteten Organen an roten Blutkörperchen von Schafen, fand ihn stark hämolysierend und schrieb diese Wirkung einer in ihm enthaltenen lysocithin-ähnlichen Substanz zu. Er wies ferner auf Parallelismen zwischen der Menge des freigesetzten Histamins und der gebildeten Lysocithinmenge hin und schrieb beide Wirkungen der Phospholipase der Gifte zu. TRETHEWIE schließt aber nicht aus, daß andere Komponenten neben der Phospholipase ebenfalls Histamin freisetzen könnten. Zu den gleichen Schlußfolgerungen kamen TRETHEWIE und DAY.

Untersuchungen von VOGT über die Wirkung von Kobragift auf Eigelb bestätigten die Befunde von FELDBERG, HOLDEN und KELLAWAY. Es

werden dabei zwei pharmakologisch aktive Spaltprodukte aus Lecithin gebildet: Lysolecithin, welches die Aktivität des Meerschweinchendarmes hemmt und ihn zur Erschlaffung bringt - und eine SRS, die aus einer oder mehreren ungesättigten Fettsäuren besteht, aber nicht mit Linolensäure identisch ist. Diese Fettsäurefraktion kontrahiert nicht nur den Darm und macht ihn gegen Histamin empfindlicher, sondern erzeugt auch Hämolyse, wenn auch ihre hämolytische Aktivität schwächer ist als die von Lysolecithin.

Neuerdings wurde eine den Vorstellungen von FELDBERG und KELLAWAY entsprechende Theorie für die Freisetzung von Histamin aus Mastzellen veröffentlicht (UVNAS). Danach soll ein an bzw. in der Zelle befindliches lytisches Enzym durch Histaminfreisetzer aktiviert werden und dann Zellmembran und intrazelluläre, Histamin enthaltende Strukturen zerstören. HÖGBERG und UVNÄS untersuchten eine Reihe von Enzymen und stellten fest, daß nur Lecithinase A die Fähigkeit der Mastzellzerstörung hat. Sie nahmen daher an, daß es sich bei dem zelleigenen lytischen Enzym ebenfalls um eine Lecithinase A handeln könne. Während der Abfassung dieser Arbeit stellte HABERMANN zusammen mit KACHLER fest, daß Phospholipase C wie auch $\mathcal{S}$ -Toxin von Gasbrandgift zur Mastzellzerstörung imstande sind.

Alles scheint also darauf hinzudeuten, daß Phospholipasen, im Falle tierischer Gifte Phospholipase A, die entscheidenden histaminfreisetzenden Komponenten sind. Manches weist jedoch auf andere Ursachen hin. So sind manche Schlangengifte stark proteolytisch. ROCHA E SILVA (1) beschrieb Histaminfreisetzung aus der isoliert durchströmten Meerschweinchenlunge durch Trypsin. Es ist möglich, daß auch eiweißspaltende Schlangengifte in ähnlicher Weise wirken. Eine Histaminfreisetzung durch das nichtenzymatische Crotamin wurde schon von GONÇALVES angenommen.

In neuerer Zeit wurden im Würzburger Pharmakologischen Institut eine Reihe von Komponenten aus tierischen Giften gereinigt, welche auf Grund ihres Vergiftungsbildes als Histaminfreisetzer in Frage kamen. Insbesondere konnte Phospholipase A aus verschiede-

nen Quellen (Bienengift und Klapperschlangengift) gewonnen werden. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mit Hilfe einer relativ einfachen Methodik die histaminfreisetzende Aktivität der verschiedenen Gifte und Giftkomponenten in vitro zu prüfen. Wir benutzten dabei das Verfahren von ROCHA E SILVA und SCHILD, mit dem von DUTTA und NARAYANAN bereits die histaminfreisetzende Wirkung von Kobragift geprüft wurde.

II. E i g e n e V e r s u c h e .

A. Methodik

Das Prinzip der von ROCHA E SILVA und SCHILD angegebenen Methodik beruht auf der Freisetzung histaminähnlicher Substanzen durch das zu prüfende Agens aus dem isolierten Rattenzwerchfell. Die biologische Auswertung erfolgt anschließend am isolierten Meerschweinchenileum.

a) Isoliertes Rattenzwerchfell

Zur Verwendung kamen etwa 200 g schwere Albinoratten, die durch Nackenschlag getötet wurden. Nach Entbluten aus den Halsgefäßen wurde die Bauchhöhle eröffnet, die Darmschlingen zur Seite geschoben und die Leber entfernt. Dann wurde das Zwerchfell von den Rippen und der hinteren Bauchwand vom Abdomen her losgetrennt. Es wurde in ein Schälchen mit Tyrodelösung von Raumtemperatur gebracht, von anhaftenden Blutgerinnseln durch Hin- und Herschwenken befreit und in den Mittel- und die beiden Seitenlappen zerlegt. Für unsere Versuche wurden nur die beiden Seitenlappen verwendet, die getrennt in 25 ml fassenden Erlenmeyerkolben mit je 5 ml Lösung für 30 min im Wasserbad bei 33° C bebrütet wurden. In dem einen Kolben befand sich die Lösung des zu prüfenden Pharmakons in Tyrode, in dem anderen nur Tyrode zur Kontrolle. Nach der Bebrütungszeit wurden die Kolben dem Thermostaten entnommen und die Zwerchfelllappen entfernt. Die Lösungen wurden dann am isolierten Meerschweinchendarm getestet.

b) Isolierter Meerschweinchendünndarm

Da nur der kotfreie Darm eine ruhige und gleichmäßige Peristaltik

gewährleistet, wurden die Tiere 24 Stunden vor Versuchsbeginn nüchtern gesetzt und dann durch Nackenschlag getötet. Nach dem Ausbluten wurde die Bauchhöhle eröffnet und das Ileum von der Ileocoecalklappe bis zum Duodenum vom Mesenterium befreit. Längere Darmstücke wurden sofort in Tyrodelösung gebracht. Bei Bedarf wurden etwa 4 cm lange Abschnitte abgetrennt und in das 18 ml fassende Darmgefäß gebracht (Beschreibung der Apparatur siehe bei HABERMANN (1)).

Die Längskontraktionen des Darmes wurden mit Hilfe eines Schreibhebels auf eine berußte Trommel übertragen. Als Nährflüssigkeit diente die Warmblütertyrode nach VON MURALT (siehe bei ALBL), aber ohne Magnesiumionen (FELDBERG und LECOMTE). Der Thermostat hatte eine konstante Temperatur von 33° C (FELDBERG und LECOMTE). Beide Maßnahmen sollten die Spontankontraktionen des Darmes verhüten helfen, ohne seine Empfindlichkeit gegen Histamin wesentlich herabzusetzen. Das Bad wurde durch eine elektrische Pumpe dauernd mit Luft durchströmt. Bei der Testung der giftfreien Kontrollen am isolierten Meerschweinchendarm zeigte sich bei 18 von 30 Experimenten keine nachweisbare Histaminaktivität (siehe Tabelle Seite 18). Die Leerwerte der restlichen Versuche entsprachen den von ROCHA E SILVA und SCHILD berichteten.

Die verwendeten Substanzen waren:

Gereinigtes Bienengift (Charge 1952 (H.Mack Nachf., Illertissen))

Fraktion I chromatographisch von F.G.FISCHER und W.P.NEUMANN aus gereinigtem Bienengift gewonnen.

Fraktion II von Bienengift sowie Phospholipase A von Bienengift (von HABERMANN durch Fällung und Chromatographie gewonnen).

Crotactin aus Crotalus terrificus-Gift von W.P.NEUMANN und E.HABERMANN chromatographisch gewonnen.

Crotamin aus Crotalus terrificus-Gift von E.HABERMANN durch praeparative Elektrophorese gewonnen.

Phospholipase A aus Crotalus terrificus-Gift von E.HABERMANN durch Chromatographie aus Crotactin gewonnen.

Naja tripudians-Gift (Basilisk, Basel)

Compound 48/80 (The Wellcome Research Laboratories)

Lysocithin von HABERMANN nach MAGISTRIS dargestellt und chromatographisch gereinigt.

Histamin-Dihydrochlorid (Merck)

Avil (Antihistaminikum der Fa. Höchst)

B. Versuche mit Gesamtgiften

1. Bienengift

Unser in der Konzentration 1:100 000 verwendetes gereinigtes Bienengift rief, wie auf Grund früherer Ergebnisse (vgl. z.B. ALBL) zu erwarten, schon für sich allein schwer auswaschbare Kontraktionen hervor. Wiederholte Gaben erzeugten am Darm Tachyphylaxie, die durch eine 10fach höhere Dosierung nicht durchbrochen werden konnte. Auf Histamin reagierte der Darm dagegen mit einer schnellen Kontraktion, die durch Spülung sofort aufgehoben werden konnte. Auf die Diaphragma-Giftlösung (1:100 000 Gift enthaltend) folgte sofort eine starke Kontraktion, die sich durch Spülung lösen ließ (vgl. Abb.1). Eine Bebrütung des Zwerchfelles mit Giftverdünnung 1:1 000 000 setzte ebenfalls, wenn auch weniger, Histaminaktivität frei (vgl. Tabelle Seite 18).



1 2 3 4 5 6 7

Abb.1

Histaminfreisetzung
durch gereinigtes
Bienengift 1:100 000
1 = 0,5 ml, 2 = 0,5 ml,
3 = 1,0 ml gereinigtes
Bienengift
4 = 0,5 γ Histamin
5 = 0,5 ml Diaphragma-
Giftlösung
6 = 0,4 γ Histamin
7 = 0,5 ml Diaphragma-
Tyrodelösung

2. Naja tripudians-Gift

Auch gegen dieses Gift mußte der Darm zunächst desensibilisiert werden. Durch 1 ml der Diaphragma-Giftlösung (1:100 000 Gift enthaltend) wurde ein starker Ausschlag erzielt, der 0,7 γ Histamin entsprach und der sich bei Spülung sofort löste. Das verwendete Zwerchfell scheint aber besonders viel oder besonders leicht verfügbares Histamin enthalten zu haben, denn auch in die Tyrodelösung traten 0,2 γ Histamin / ml über, ein Befund, auf den schon ROCHA E SILVA und SCHILD hingewiesen haben (vgl. Abb.2).



1 2 3 4

Abb.2

Histaminfreisetzung durch Naja tripudians-Gift 1:100 000

1 = 1,0 ml Naja tripudians-Gift

2 = 1,0 ml Diaphragma-Giftlösung

3 = 0,7 γ Histamin

4 = 1,0 ml Diaphragma-Tyrodelösung

Compound 48/80

Wir benutzten diese als Histaminfreisetzer bekannte Verbindung gelegentlich, um aus Zwerchfellen, die bereits mit Bienengiftphospholipase, Fraktion I oder Tyrode bebrütet worden waren, durch Behandlung mit Compound 48/80 weiteres Histamin zu erhalten. Der Darm wurde gegen Compound 48/80, Phospholipase A und Fraktion I desensibilisiert und dann die Testlösung geprüft. Die gefundenen Werte sind in nachfolgender Tabelle zusammengestellt.

Versuch einer Erfassung von zusätzlich durch Compound 48/80 freisetzbarem Histamin:

Ver- such Nr.	Substanz	1 ml Test- lösung ent- sprechen γ Histamin	1 ml Kon- trollösung entsprechen γ Histamin	Gesamtgehalt der Testlös. (abzgl. Kon- trollösung(γ))
1	{ Phospholipase A 1:1 000 000	0,3	0,1	1,0
	{ aus Bienengift			
	Compound 48/80 1:100 000	0,2	0	1,0
2	{ Fraktion I von 1:1 000 000	0,15	0,05	0,5
	{ Bienengift			
	Compound 48/80 1:100 000	0,15	0,05	0,5
3	{ Tyrode	0,05	0,05	0,25
	{ Compound 48/80 1:100 000	0,2	0,05	0,75

C. Versuche mit toxischen Komponenten

1. Fraktion I aus Bienengift

Aus den älteren Versuchen von FELDBERG und KELLAWAY (2), sowie aus unseren eigenen Ergebnissen mit Bienengesamtgift läßt sich nichts Eindeutiges über den zur Histaminfreisetzung führenden Prozeß aussagen, wenn auch der FELDBERGSCHEN Theorie die intermediäre Bildung von Lysolecithin als eigentlichem Histaminliberator zugrunde liegt. Nachdem bei Bienengift die Auftrennung in eine toxische, nicht enzymatische Komponente (Fraktion I) und Phospholipase A gelungen war, hatten wir die Möglichkeit, mittels gereinigter Komponenten die Richtigkeit dieser in neuerer Zeit auch durch HÖGBERG und UVNÄS vertretenen und erweiterten Theorie zu überprüfen.

Mehrere Gaben von je 0,5 ml der Fraktion I in der Konzentration 1:100 000 ließen den Darm sich langsam kontrahieren. Die Tachyphylaxie war nicht sehr ausgeprägt, der Gifteffekt war durch Spülung nur langsam zu beseitigen. Durch Histamin waren schnelle Kontraktionen zu erzielen, die sich bei Spülung sofort lösten. Bei Einbringen von 1 ml der Diaphragma-Giftlösung (1:100 000 Gift enthaltend) erfolgte sofort eine starke Kontraktion, die einer Histaminmenge von 0,5 γ entsprach (vgl. Abb. 3). Auf eine nochmalige

ge Gabe von Fraktion I zeigte der Darm keinerlei Reaktion. Versuche mit einer Diaphragma-Giftlösung (1:1 000 000 Gift enthaltend) verliefen nicht so eindeutig wie bei höherer Konzentration, 1 ml der Testlösung entsprach 0,15 μ g Histamin (vgl. Tabelle Seite 18).

Dieses positive Ergebnis mit Fraktion I deckt sich mit später erhaltenen Resultaten von KACHLER sowie RILEY, welche die starke Mastzellzerstörung durch Fraktion I des Bienengiftes erkannten.

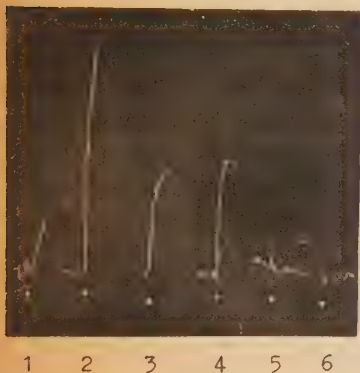


Abb.3

Histaminfreisetzung durch Bienengift-Fraktion I 1:100 000

1 = 1,0 ml Fraktion I

2 = 1,0 μ g Histamin

3 = 1,0 ml Diaphragma-Giftlösung

4 = 0,5 μ g Histamin

5 = 1,0 ml Fraktion I

6 = 0,5 ml Diaphragma-Tyrolerlösung

2. Crotamin und Crotactin aus Crotalus terrificus-Gift

Das Verhalten der von W.P.NEUMANN und HABERMANN, sowie HABERMANN(2,3) aus Crotalus terrificus-Gift isolierten enzymfreien, aber toxischen Komponenten, nämlich Crotamin und Crotactin, erschien besonders interessant, weil damit einerseits die Gültigkeit der "Enzymtheorie" der Histaminfreisetzung überprüft werden konnte; andererseits hatte GONÇALVES die Permeabilitätssteigerung durch Crotamin auf Histaminfreisetzung bezogen und sie sogar als Testmethode verwendet.

Crotamin selbst war am Darm in Dosen von 50 und 100 μ g relativ wenig wirksam; es erzeugte bei den ersten Dosen eine ganz langsame Kontraktion. 1 ml der Diaphragma-Giftlösung (1:10 000 Gift enthaltend) führte zu einer sofortigen schnellen Kontraktion, die

0,25 γ Histamin entsprach und sich bei der Spülung sofort löste (vgl. Abb. 4). Versuche mit einer halb so starken Konzentration erbrachten ähnliche Ergebnisse, wobei die Kontraktion auf 1 ml der Diaphragma-Giftlösung (1:20 000 Gift enthaltend) einer Histaminmenge von 0,25 γ entsprach (vgl. Tabelle Seite 18). GONÇALVES reihte also sein Crotamin zu Recht unter die Histaminfreisetzer ein.

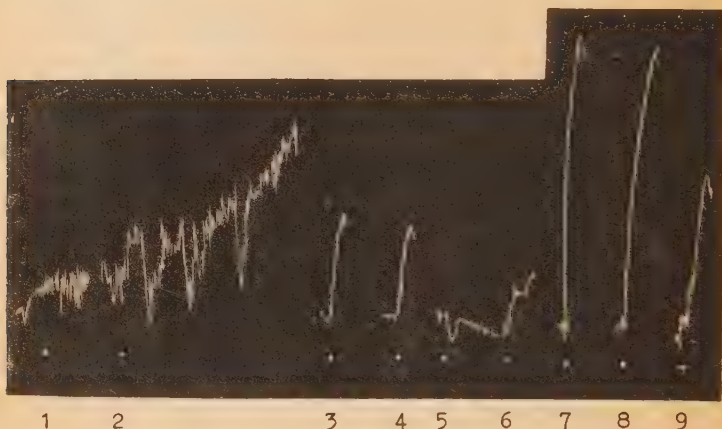


Abb. 4 Histaminfreisetzung durch Crotamin 1:10 000 und 1:20 000

- | | |
|------------------------------------|----------|
| 1 = 0,5 ml Crotamin | 1:10 000 |
| 2 = 1,0 ml Crotamin | |
| 3 = 1,0 ml Diaphragma-Giftlösung | |
| 4 = 0,25 γ Histamin | |
| 5 = 1,0 ml Crotamin | |
| 6 = 1,0 ml Diaphragma-Tyrodelösung | |
| 7 = 1,0 ml Diaphragma-Giftlösung | 1:20 000 |
| 8 = 0,25 γ Histamin | |
| 9 = 1,0 ml Diaphragma-Tyrodelösung | |

Crotamin ist jedoch nicht der einzige Histaminfreisetzer im Klapperschlangengift. Auch das aus der Crotoxinfraktion stammende Crotactin setzte deutlich Histamin frei. Crotactin selbst war am isolierten Darm nur sehr schwach wirksam, schien ihn aber

etwas gegen den mechanischen Einfluß der Spülung zu sensibilisieren. 1 ml einer Diaphragma-Giftlösung (1:10 000 Gift enthaltend) erzeugte einen schnellen Ausschlag, der 0,3 γ Histamin entsprach (vgl. Abb. 5 und Tabelle Seite 18). Dieser Ausschlag ging bei der Spülung sofort wieder zur Grundlinie zurück.



Abb. 5

Histaminfreisetzung durch Crotactin 1:10 000

1 = 0,5 ml Crotactin

2 = 1,0 ml Diaphragma-Giftlösung

3 = 0,3 γ Histamin

4 = 1,0 ml Diaphragma-Tyrodellösung

1 2 3 4

D. Versuche zur Frage der Phospholipasewirkung

1. Fraktion II von Bienengift

Nach unseren bisherigen Ergebnissen ist Histaminfreisetzung durch eine Reihe von phospholipasefreien Giftkomponenten, wie Fraktion I von Bienengift, Crotamin und Crotactin aus Klapperschlangengift möglich. Es war aber die Frage noch unbeantwortet, ob überhaupt gereinigte Phospholipasen zur Histaminfreisetzung befähigt sind. Wir bezogen daher eine Reihe von phospholipasereichen, gereinigten Präparationen verschiedener Herkunft in unser Untersuchungsprogramm ein, nämlich Fraktion II von Bienengift, gereinigte Phospholipase A von Bienengift und Phospholipase A von Klapperschlangengift.

Nach erstmaliger Gabe von 0,5 ml Fraktion II in der Konzentration 1:10 000 trat eine maximale, schnelle Kontraktion auf, die sich bei Spülung langsam löste und die Grundlinie erst nach 10 min wieder erreichte. Eine nochmalige Giftgabe ließ die Kurve lang-

sam ansteigen, eine dritte Gabe zeigte keinerlei Wirkung mehr. Auf die Ausbildung dieser starken Tachyphylaxie hat schon ALBL hingewiesen.

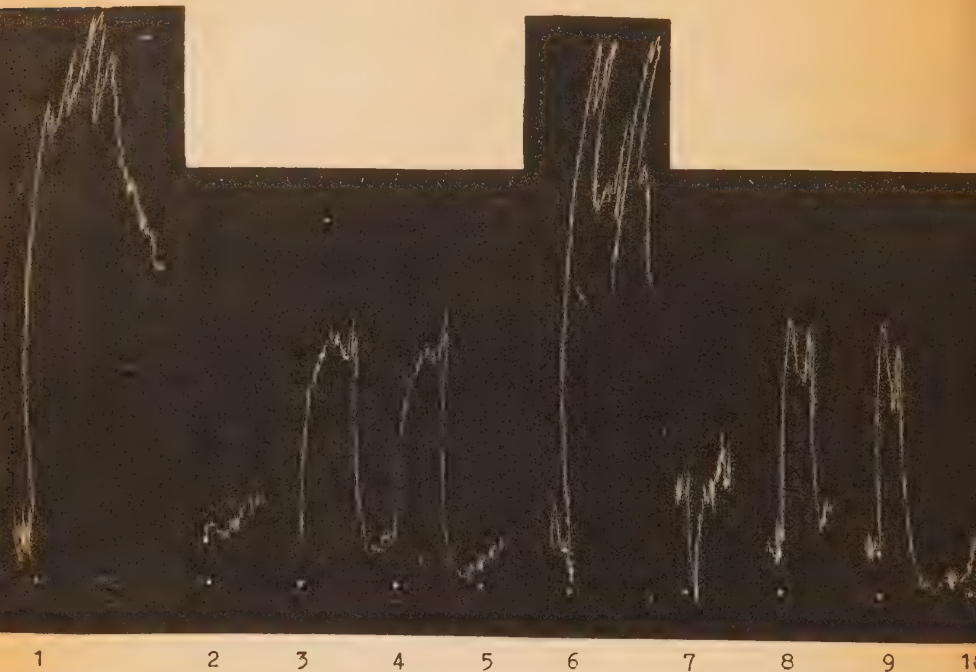


Abb.6 Histaminfreisetzung durch Bienengift-Fraktion II
1:10 000 und 1:100 000

- | | |
|-------------------------------------|-----------|
| 1 = 0,5 ml Fraktion II | 1:10 000 |
| 2 = 0,5 ml Fraktion II | |
| 3 = 1,0 ml Diaphragma-Giftlösung | |
| 4 = 1,0 γ Histamin | |
| 5 = 0,5 ml Diaphragma-Tyrodelösung | |
| 6 = 2,5 ml Fraktion II | 1:100 000 |
| 7 = 2,5 ml Fraktion II | |
| 8 = 0,5 ml Diaphragma-Giftlösung | |
| 9 = 0,5 γ Histamin | |
| 10 = 1,0 ml Diaphragma-Tyrodelösung | |

Bei Einbringen von 1 ml der Diaphragma-Giftlösung 1:10 000 reagierte der Darm mit einer schnellen, starken Kontraktion, die einer Histaminmenge von 1 γ entsprach und die sich ebenso wie die Histaminerregung sofort bei Spülung löste (vgl. Abb. 6). Bei einem Versuch mit einer Diaphragma-Giftlösung (1:100 000 Gift enthaltend) entsprachen 0,5 ml der Testlösung 0,5 γ Histamin (vgl. Abb. 6 u. Tabelle Seite 18).

Fraktion II war das am stärksten Tachyphylaxie erzeugende und histaminfreisetzende Material, das uns zur Verfügung stand.

2. Phospholipase A aus Bienengift

Nach HABERMANN (4) ruft gereinigte Phospholipase A, ebenso wie Fraktion II von Bienengift, bei der ersten Gabe starke Kontraktionen des Meerschweinchendarmes mit nachfolgender Tachyphylaxie hervor. Diese starke Desensibilisierung des Darmes könnte durch Histaminfreisetzung bei der ersten Gabe erklärt werden. Tatsächlich setzte bei unseren Versuchen gereinigte Phospholipase A auch Histamin frei.

Mit der verwendeten Konzentration von 1:100 000 ließ sich schon nach zweimaliger Gabe von je 0,5 ml Phospholipase A eine starke Tachyphylaxie erzeugen. Weitere Giftgaben lösten keine Reaktionen mehr aus. Bei Einbringen von 0,5 ml der Diaphragma-Giftlösung 1:100 000 kontrahierte sich der Darm schnell und kehrte bei Spülung sofort zur Grundlinie zurück. Die Ausschläge entsprachen 0,5 γ bzw. 0,4 γ Histamin (vgl. Abb. 7). Versuche mit einer Diaphragma-Giftlösung 1:1 000 000 brachten ähnliche Ergebnisse, 0,5 ml Testlösung entsprachen 0,2 γ Histamin, bzw. 1 ml Testlösung 0,3 γ Histamin (vgl. Tabelle Seite 18).

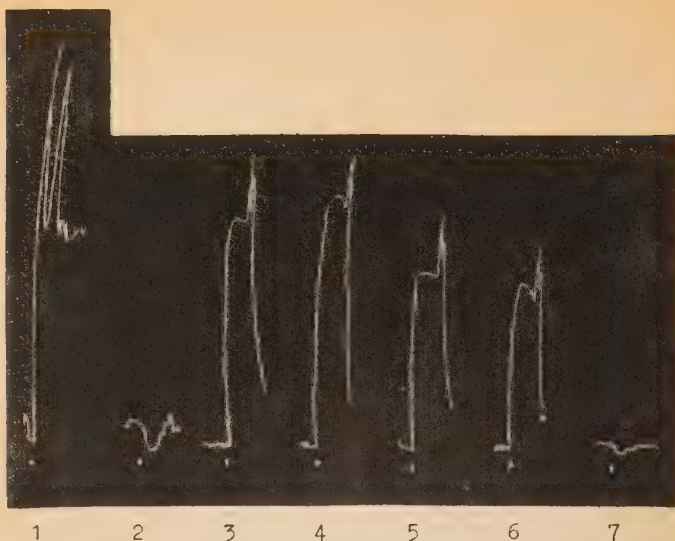


Abb.7 Histaminfreisetzung durch Bienengift-Phospholipase A
1:100 000

- 1 = 0,5 ml Phospholipase A
- 2 = 0,5 ml Phospholipase A
- 3 = 0,5 ml Diaphragma-Giftlösung
- 4 = 0,5 γ Histamin
- 5 = 0,5 ml Diaphragma-Giftlösung
- 6 = 0,4 γ Histamin
- 7 = 0,5 ml Diaphragma-Tyrolösung

3. Phospholipase A aus Crotalus terrificus-Gift

Nach HABERMANN (5) ist die aus dem Gift der brasilianischen Klap-
perschlange gereinigte Phospholipase A enzymatisch weniger aktiv
als die aus Bienengift gewonnene. In unseren Versuchen konnten
wir dies auch bezüglich Darmwirksamkeit und Histaminfreisetzung
feststellen.

Auf die erste Gabe von 0,5 ml Phospholipase A in der Konzentra-
tion 1:100 000 kontrahierte sich der Darm maximal und erreichte
erst 10 min nach der Spülung langsam wieder die Grundlinie. Bei

einer zweiten Giftgabe kam es zu einer langsamen, schwachen Kontraktion. Eine dritte Giftgabe hatte keinen Effekt.

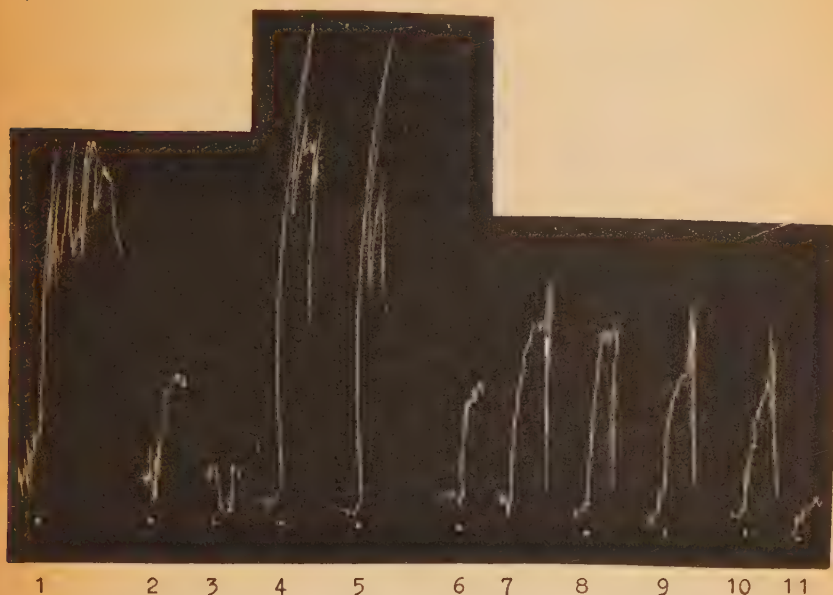


Abb.8 Histaminfreisetzung durch Klapperschlangengift-
Phospholipase A 1:100 000 und 1:1 000 000

- | | |
|-------------------------------------|-------------|
| 1 = 0,5 ml Phospholipase A | 1:100 000 |
| 2 = 0,5 ml Phospholipase A | |
| 3 = 0,5 ml Phospholipase A | |
| 4 = 0,5 ml Diaphragma-Giftlösung | |
| 5 = 0,5 γ Histamin | |
| 6 = 0,5 ml Diaphragma-Tyrodelösung | |
| 7 = 1,0 ml Diaphragma-Giftlösung | 1:1 000 000 |
| 8 = 0,2 γ Histamin | |
| 9 = 0,5 ml Diaphragma-Giftlösung | |
| 10 = 0,1 γ Histamin | |
| 11 = 0,5 ml Diaphragma-Tyrodelösung | |

Bei Einbringen von 0,5 ml der Diaphragma-Giftlösung 1:100 000 kontrahierte sich der Darm schnell maximal und erreichte bei Spülung sofort wieder die Grundlinie. Der Ausschlag entsprach 0,5 γ Histamin (vgl. Abb. 8). Versuche mit einer Diaphragma-Giftlösung 1:1 000 000 brachten ähnliche Ergebnisse. 1 ml der Testlösung erzeugte einen Ausschlag, der 0,2 γ Histamin entsprach. Bei 0,5 ml der Testlösung entsprach der Ausschlag einer Histaminmenge von 0,1 γ (vgl. Abb. 8 und Tabelle Seite 18).

4. Lysocithin

Ein indirekter Beweis für das Auftreten von Lysocithin in gift- bzw. phospholipasebehandelten Zwerchfellen wurde von uns mittels Hämolysemethoden versucht, deren Ergebnisse aber sämtlich negativ waren. Das beweist jedoch nicht, daß kein Lysocithin gebildet worden wäre; denn es könnte ja durch andere Gewebsbestandteile, wie Cholesterin, gebunden und so dem Nachweis entzogen worden sein.

Die am Darm getesteten Zwerchfellinkubate wurden in der Tiefkühltruhe (ca. -8° C) aufbewahrt und am Ende der Versuchsreihe gemeinsam getestet. Hierzu wurden 0,1 ml mit 0,1 ml einer 0,6%igen Suspension gewaschener menschlicher Erythrozyten in physiologischer Kochsalzlösung vereinigt und zwei Stunden im Wasserbad bei 37° C belassen. Eine Lysocithin-Verdünnungsreihe 1:5 000-1:80 000 diente als Kontrolle. Während Lysocithin bis zur Verdünnung 1:40 000 vollständig hämolysierte, fand in keinem der übrigen Röhrchen eine sichtbare Erythrozytenzerstörung statt. 20 γ Lysocithin/ml der untersuchten Zwerchfellinkubate hätte noch nachgewiesen werden können.

FELDBERG, HOLDEN und KELLAWAY fanden bei ihren Versuchen, daß bei Einwirkung von Kobragift auf Lymphe, Eigelb oder Lecithin zwei aktive Substanzen auftraten, deren eine den Meerschweinchendünndarm langsam kontrahierte und deren Natur ihnen unbekannt war. Die andere Substanz war Lysocithin. Sie verursachte neben Hämolyse eine verminderte Erregbarkeit des Meerschweinchendünndarmes und brachte ihn zum Erschlaffen. Spätere Arbeiten von

VOGT in gleicher Richtung bestätigten die Befunde von FELDBERG, HOLDEN und KELLAWAY. Die unbekannte SRS erwies sich als ungesättigte Fettsäurefraktion, die die Empfindlichkeit des Darmes gegen Histamin erhöhte. Daneben konnte auch VOGT die den Darm hemmende und erschlaffende Wirkung des Lysocithins nachweisen.

Wie zu erwarten, trat bei unserer Versuchsanordnung die erschlaffende Wirkung gereinigten Lysocithins deutlich in Erscheinung. Diaphragma-Lysocithin-Lösungen in der Konzentration 1:100 000 brachten nur in einem von 5 Fällen eine Reaktion von Seiten des Darmes hervor. Dieses Resultat mag erstaunlich stimmen, zumal von HÖGBERG und UVNÄS, wie auch von KACHLER, Mastzellzerstörung durch Lysolecithin gesehen wurde. Doch ist zu bedenken, daß Lysolecithin gleichzeitig den Nachweis von Histamin am Darm stört (vgl. FELDBERG, HOLDEN und KELLAWAY).

Histaminfreisetzung durch die untersuchten Pharmaca.

Substanz		1 ml Test- lösung ent- sprechen x Histamin	1 ml Kon- trollösung entsprechen x Histamin	Gesamtgehalt der Testlös. (abzgl. Kon- trollösung(x))
Gereinigtes Bie- nengift	1:100 000	0,8	0,1	3,5
	1:100 000	0,8	0	4,0
	1:1 000 000	0,1	0	0,5
Naja tripudians- Gift	1:10 000	1,0	0	5,0
	1:100 000	0,7	0,2	2,5
Fraktion I von Bienengift	1:100 000	0,5	0	2,5
	1:1 000 000	0,15	0,05	0,5
Crotamin aus Crotalus terri- ficus-Gift	1:10 000	0,25	0,05	1,0
	1:20 000	0,25	0,1	0,75
Crotactin aus Crotalus terri- ficus-Gift	1:10 000	0,3	0	1,5
	1:10 000	0,25	0	1,25
Fraktion II von Bienengift	1:10 000	1,0	0	5,0
	1:100 000	1,0	0,1	4,5
	1:100 000	1,0	0	5,0
Phospholipase A aus Bienengift	1:100 000	1,0	0	5,0
	1:100 000	0,8	0	4,0
	1:1 000 000	0,4	0,1	1,5
	1:1 000 000	0,3	0,1	1,0
Phospholipase A aus Crotalus terrificus- Gift	1:100 000	1,0	0,2	4,0
	1:100 000	0,6	0,1	2,5
	1:1 000 000	0,2	0	1,0
	1:1 000 000	0,2	0	1,0
Lysocithin x)	1:100 000	0,1	0,05	0,25

x) Die Histaminfreisetzung bei diesem Experiment erscheint fraglich, da vier weitere Versuche negativ verliefen (vgl.S.17).

E. Hemmung der freigesetzten Aktivität durch ein Antihistaminikum.

Die Frage, inwieweit die freigesetzte Aktivität mit Histamin identisch war, wollten wir durch die Anwendung eines Antihistaminikums prüfen. Wir benutzten dazu Avil, welches schon von SARTORIUS und ALBL bei ähnlichen Versuchen verwendet worden war. Bei Einbringen von 2γ Avil in die Badflüssigkeit, die schon die Diaphragma-Giftlösung enthielt, löste sich sofort die Kontraktion des Darmes. Zusatz des Antihistaminikums vor Einbringen der Diaphragma-Giftlösung ließ den Darm in der Ruhelage verharren. Bei allen von uns getesteten Komponenten ließen sich die Darmkontraktionen auf die Diaphragma-Giftlösung durch Avil beseitigen oder von vornherein hemmen. Nachdem Avil in diesen Dosen die Reaktion des Darmes auf beispielsweise Acetylcholin (ALBL) oder 5-Hydroxytryptamin (SPRINGER) noch nicht beeinflusst, kommt dieser Probe zweifellos eine gewisse Spezifität zu.

Die Wirkung der Diaphragma-Giftlösung kann nicht etwa auf das darin vorhandene Gift zurückgeführt werden. Zunächst wurden die Darmstücke gegen die jeweils geprüften Giftbestandteile oder Gifte desensibilisiert (vgl. die Abbildungen 1,4,5,6,7 und 8). Dann waren die Kontraktionen des Darmes auf die Diaphragma-Giftlösungen genauso wie die Kontraktionen auf Histamingaben durch Spülung zu beseitigen (DUTTA und NARAYANAN). Der Darm erschlaffte sofort nach Wechsel der Badflüssigkeit. Dagegen mindern sich die Gifteffekte auch bei intensiver Spülung nur langsam.

F. Versuche an der isolierten Meerschweinchenlunge

Zur Untersuchung der Histaminfreisetzung aus der Meerschweinchenlunge verwandten wir die von BHATTACHARYA und DELAUNOIS angegebene Apparatur mit den von DELAUNOIS und KING vorgeschlagenen Verbesserungen. Sie gestattet nach Angaben der Autoren eine Messung der Bronchialweite sowie der Perfusionsgeschwindigkeit. Die Lunge wurde durch die Trachea mit einem Gemisch von 95% O₂ und 5% CO₂ mit Hilfe einer Unterdruckpumpe rhythmisch beatmet. Der Gasdruck betrug 20 cm Wassersäule, womit eine vollständige Auf-

blähung der Lunge erzielt wurde. Die Perfusionsflüssigkeit, Tyrode mit 3% Dextran, wurde mit Hilfe einer Kanüle durch das aufgeschnittene rechte Herz in die Arteria pulmonalis infundiert. Der Höhenunterschied zwischen Vorratsflasche und Arteria pulmonalis betrug 20-30 cm, der Flüssigkeitsdruck wurde durch eine Klemme reguliert, so daß in der Minute zwei bis fünf Tropfen durch die Lunge strömten. Nach 20 bis 30 min waren in unseren Versuchen die Lungen stark ödematös und starr, so daß die Perfusion zum Stillstand kam. Versuche mit anderen Zusätzen zur Tyrode, wie 5% Kollidon, oder die Anwendung von reinem Rinderserum, brachten keine besseren Ergebnisse.

Einen gewissen Erfolg konnten wir nur bei 2 von 15 Versuchen erzielen; die Perfusion verlangsamte sich bei Gaben von 0,05 und 0,5 mg Fraktion I eindeutig, die Bronchialweite wurde geringer; erst nach etwa 30 min hatte sich die Ausgangslage wieder hergestellt. Die Unzuverlässigkeit und Kompliziertheit des Verfahrens veranlaßten uns, die Versuche einzustellen.

III. B e s p r e c h u n g

Das wichtigste Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist, daß praktisch alle untersuchten Komponenten von Schlangen- und Bienen gift zur "Histaminfreisetzung" imstande sind. Damit ist die Theorie FELDBERGS von der Bedeutung der im Gift enthaltenen Phospholipase für die Histaminfreisetzung bestätigt, aber in ihrer Allgemeingültigkeit eingeschränkt.

Phospholipasen sind sehr aktive Histaminliberatoren, wie unsere Versuche mit Fraktion II von Bienengift, Phospholipase A aus Biene- und Klapperschlangengift zeigen; dabei hat unsere Versuchsanordnung noch gegenüber den FELDBERGSCHEM Durchströmungsexperimenten den Vorteil höherer Spezifität, daß eventuelle Gefäßreaktionen keine Rolle für die Intensität der Gewebsvergiftung spielen. - Jedoch sind Phospholipasen sicher nicht die einzigen Histaminfreisetzer in tierischen Giften. Fraktion I von Bienengift (Melittin) ist ebenso wie Crotamin und Crotactin vom

Klapperschlangengift nach unseren heutigen Kenntnissen enzymfrei; dennoch setzen diese drei Agentien Histamin frei. Wahrscheinlich existieren in den Giften noch sehr viel mehr derartig wirkende Faktoren; es sei nur daran erinnert, daß ROCHA E SILVA (?) eine Proteasentheorie der Histaminfreisetzung aufstellte und sie mittels Durchströmungsexperimenten an der Meerschweinchenlunge zu fundieren versuchte.

Die Anschauung von der Vielfalt der Histaminfreisetzer gewinnt eine erhebliche Stütze durch die neuerdings von KACHLER berichteten mikroskopischen Befunde am Rattenmesenterium in vitro. Die als Träger eines großen Teils des Gewebshistamins bekannten Mastzellen werden nicht nur durch Phospholipase A -Präparate, sondern auch durch α - und β -Toxin von Clostridium Welchii und Fraktion I von Bienengift zerstört. Interessant ist außerdem, daß sämtliche auf Grund unserer Befunde zu den Histaminfreisettern zu zählenden Komponenten am Meerschweinchendarm kontrahierend wirken und Tachyphylaxie erzeugen. Es ist vorstellbar, daß beide Phänomene auf Histaminausschüttung unter dem Einfluß der Giftkomponenten zurückzuführen sind. Eine für die Histaminfreisetzung allgemein gültige Phospholipasetheorie könnte noch von der Annahme ausgehen, daß ein solches Enzym in der Mastzellenwand enthalten sei und durch sogenannte Histaminfreisetzer aktiviert würde - eine Anschauung, die in der letzten Zeit HÖGBERG und UVNÄS vertreten haben. Es wäre dann denkbar, daß diese gewebeeigene Phospholipase A entweder durch Lecithinzerstörung oder durch Lysocithinbildung den Anstoß zum Histaminaustritt geben könnte.

FELDBERG hatte ja schon angenommen, daß jede Histaminfreisetzung durch das Auftreten einer lysocithinartigen Substanz in der Zelle bedingt sei. Der entscheidende Mangel dieser Theorie ist jedoch das Fehlen jeder Unterlage für eine weitere Verbreitung von Phospholipase A oder auch von Lysolecithin in den Geweben. Wir selbst versuchten Lysolecithin in der Badflüssigkeit der vergifteten Zwerchfelle nachzuweisen, hatten aber nicht einmal bei den phospholipasehaltigen Lösungen Erfolg. Damit kann jedoch nicht die Lysocithinhypothese widerlegt werden, weil diese Substanz

eventuell durch gewebeeigene Inaktivatoren, z.B. Lecithin oder Cholesterin (HABERMANN (6)), abgefangen werden könnte. Lysolecithin selbst setzte unter unseren Bedingungen nicht eindeutig Histamin frei. Es ist jedoch vorstellbar, daß die Ausschüttung kleiner Histaminmengen uns entgangen sein könnte, weil ja Lysolecithin das Meerschweinchenileum erschlaffen läßt und so dieses als Testobjekt für den Histaminnachweis weniger brauchbar macht.

Ob das in unseren Versuchen freigesetzte Material tatsächlich Histamin ist oder nur eine histaminähnliche Substanz, haben wir nicht untersucht; doch spricht die Hemmbarkeit der Darmkontraktionen durch das verwendete Antihistaminikum und auch die bei allen Versuchen beobachtete gleichartige Empfindlichkeitsschwankung gegenüber Testmaterial und Histamin hierfür. Sicher sind die von uns registrierten Kontraktionen nicht durch die von uns verwendeten Gifte bestimmt, weil wir stets das Organ vor dem Histaminnachweis desensibilisierten.

Die Entwicklung einer "slow reacting substance" konnten wir ebensowenig wie DUTTA und NARAYANAN beobachten. Die bekannteste, durch tierische Gifte freigesetzte SRS, das Bradykinin ROCHA E SILVAS, konnte sich höchstens in sehr geringem Ausmaß bilden, weil unsere Zwerchfelle von ausgebluteten Tieren stammten und obendrein mit Tyrode vor Gebrauch gewaschen wurden, während sich Bradykinin aus einer Globulinfraktion des Blutes und (nach unveröffentlichten Versuchen von HABERMANN (7)) nicht in nennenswertem Maße aus Muskelgewebe bildet.

IV. Zusammenfassung

Die Freisetzung von Histamin, genauer von histaminartig wirkenden Substanzen, aus dem isolierten Rattenzwerchfell durch Bienen- und Klapperschlangengift und daraus gewonnene Komponenten wurde untersucht.

Alle geprüften Giftkomponenten setzten in wechselndem Maße Histamin frei, wobei die phospholipasehaltigen Präparate aus Bienengift am wirksamsten waren. Jedoch kann die Histaminausschüttung durch tierische Gifte nicht allein auf deren Phospholipasegehalt bezogen werden, weil auch phospholipasefreie Komponenten, wie Melittin von Bienengift sowie Crotamin und Crotactin von Klapperschlangengift Histamin austreten lassen. Umgekehrt war kein Lysocithin als Reaktionsprodukt von Phospholipase A in den getesteten Lösungen zu finden; auch der Nachweis einer Histaminfreisetzung durch Lysocithin gelang nicht.

Herrn Privatdozenten Dr. E. Habermann möchte ich für die Überlassung des Themas sowie für die unermüdliche Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der Arbeit herzlich danken.

Herrn Professor Dr. Dr. Neumann erlaube ich mir für die freundliche Übernahme des Korreferates Dank zu sagen.

V. L i t e r a t u r

- Albl, F.: Inaug.Diss.Würzburg 1956
- Bhattacharya, B.K.
u.A.L.Delaunois: Arch.int.pharmacodyn.101, 495 (1955)
- Delaunois, A.L.u.T.O.King: Arch.int.pharmacodyn.107, 90 (1956)
- Dutta, N.K.u.K.G.A.Narayanan: Nature, London 169, 1064 (1952)
- Dutta, N.K.u.K.G.A.Narayanan: Brit.J.Pharmacol.9, 408 (1954)
- Essex, H.E.u.J.Markowitz: Am.J.Physiol.92, 705 (1930)
- Feldberg, W., H.F.Holden
u.C.H.Kellaway: J.Physiol.94, 232 (1938)
- Feldberg, W.u.C.H.Kellaway (1): J.Physiol.90, 257 (1937)
- Feldberg, W.u.C.H.Kellaway (2): Austr.J.exp.Biol.15, 461 (1937)
- Feldberg, W.u.C.H.Kellaway (3): J.Physiol.94, 187 (1938)
- Feldberg, W.u.J.Lecomte: Brit.J.Pharmacol.10, 254 (1955)
- Fischer, F.G.u.W.P.Neumann: Biochem.Zschr.324, 447 (1953)
- Gonçalves, J.M.: in Buckley-Porges "Venoms"
Washington 1956, 261
- Habermann, E. (1): Inaug.Diss.Würzburg 1951
- Habermann, E. (2): Biochem.Zschr.329, 405 (1957)
- Habermann, E. (3): Arch.exper.Path.u.Pharmakol.232,
244 (1957)
- Habermann, E. (4): Arch.exper.Path.u.Pharmakol.230,
538 (1957)
- Habermann, E. (5): Biochem.Zschr.329, 405 (1957)
- Habermann, E. (6): Zschr.ges.exp.Med.129, 436 (1958)
- Habermann, E. (7): unveröffentl. Ergebnisse
- Högberg, B.u.B.Uvnäs: Acta physiol.scand.41, 345 (1957)
- Kachler, H.: Inaug.Diss.Würzburg 1958
- Kellaway, C.H.u.D.H.LeMessurier: Austr.J.exp.Biol.14, 57 (1936)
- Magistris, H.: Biochem.Zschr.210, 85 (1929)
- Muralt, A.v.: Praktische Physiologie
Berlin-Heidelberg 1948

- Neumann, W. P. u. E. Habermann: Biochem. Zschr. 327, 170 (1955)
- Neumann, W. u. E. Habermann: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 222, 367 (1954)
- Riley, J. F.: J. Pharmacy a. Pharmacol. 10, 271 (1958)
- Rocha e Silva, M. (1): Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 194, 335 (1940)
- Rocha e Silva, M. (2): in Ciba Foundation Symposium on Histamine p.127 (1956)
- Rocha e Silva, M., W. T. Beraldo u. G. Rosenfeld: Am. J. Physiol. 156, 261 (1949)
- Rocha e Silva, M. u. H. O. Schild: J. Physiol. 109, 448 (1949)
- Sartorius, H.: Inaug. Diss. Würzburg 1950
- Springer, H.: Inaug. Diss. Würzburg 1958
- Trethewie, E. R.: Austr. J. exp. Biol. 17, 145 (1939)
- Trethewie, E. R. u. A. J. Day: Austr. J. exp. Biol. 26, 153 (1948)
- Vogt, W.: J. Physiol. 136, 131 (1956)
- Uvnäs, B.: J. Pharmacy a. Pharmacol. 10, 1 (1958)

L e b e n s l a u f

Ich wurde am 24. Februar 1930 als Sohn des Reklamezeichners Horst Striebeck und seiner Ehefrau Traute geb. Ross in Königsberg/Preußen geboren.

Nach Besuch der Volksschule in Berlin trat ich 1940 in die Oberschule ein. Infolge häufigen Schulwechsels, bedingt durch Kriegsereignisse und Flucht, legte ich im Juni 1950 die Reifeprüfung an der Oberschule in Bad Mergentheim ab.

Seit Sommersemester 1954 studierte ich Zahnmedizin in Würzburg, wo ich auch im Oktober 1958 mein Studium mit dem Staatsexamen abschloß.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Horst Striebeck.

